

⑨日本国特許庁  
公開特許公報

⑩特許出願公開  
昭53—135660

⑤Int. Cl.<sup>2</sup> 識別記号 ⑥日本分類 庁内整理番号 ④公開 昭和53年(1978)11月27日  
G 02 B 21/16 104 B 35 6351—23 発明の数 1  
G 01 J 3/42 111 F 8 7458—23 審査請求 未請求  
113 A 31 6807—49  
(全 3 頁)

④レーザー光を用いた螢光測光顕微鏡

①特 願 昭52—50558

②出 願 昭52(1977)4月30日

特許法第30条第1項適用 昭和52年4月20日

発行毎日新聞に発表

⑦発 明 者 沢村一郎

八王子市めじろ台3の23の12

同 相原守

⑦発 明 者 中村一彦

八王子市元本郷町1の30の11

同 近藤陽一

八王子市平岡町30の7

⑧出 願 人 オリンパス光学工業株式会社

東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番  
2号

⑨代 理 人 弁理士 篠原泰司 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

レーザー光を用いた螢光測光顕微鏡

2. 特許請求の範囲

レーザー光によつて標本面上を走査し、これによつて発した螢光を波長分離し両波長の螢光を測光するようにしたことを特徴とするレーザー光を用いた螢光測光顕微鏡。

3. 発明の詳細な説明

本発明はレーザー光を用いた螢光測光顕微鏡に関するもので、特にガンであるか否かを判定する際に用いて有効である螢光測光顕微鏡に関するものである。

従来細胞診においてガンであるか否かを判定する場合は、標体である細胞を顕微鏡下で観察し、細胞自体や核の大きさやこれらの形状その他によつて判断していた。したがつて判定のための作業は非能率的であつて、しかも経験豊富な専門家が行なわねばならなかつた。

本発明は細胞にレーザー光を用いた励起光をあ

て、細胞より発する螢光を測光することによつて判定を高速度化すると共に正確な判定を可能にした。すなわちレーザー光を用いた螢光測光顕微鏡を提供するものである。

前述のように細胞が正常な細胞であるかガン細胞であるかは核の大きさ等で判定することが出来る。それは細胞に励起光を照射した時に発する螢光の発光量によつて細胞や核の量を求め、更にそれらの大きさを測定することによつて可能となる。特に標体である細胞より発する螢光は、細胞質より発する螢光と核より発する螢光とでその波長が異なる点に着目し、これによつて細胞質と核の夫々の量を大きさを検出することを可能にしたものである。

以下本発明螢光測光顕微鏡の詳細な内容を説明する。第1図において1はレーザー光源、2a、2bは夫々ガルバーミラー、3はダイクロイックミラー、4は対物レンズ、5は標本、6は他のダイクロイックミラー、7a、7bは夫々受光素子、8a、8bは夫々増巾回路、9は演算処理回路、

10は表示装置である。このような構成の蛍光測光顕微鏡において、レーザー光源1よりの光はガルバーミラー2a, 2bにて反射され更にダイクロイックミラー3にて反射されてコンデンサーレンズを兼ねた対物レンズ4にて試料5を照射する。この場合光源としてレーザー光源が用いられているので照明は試料中の特定の微小部分を照明することになる。又レーザー光は一般に単色光であるので励起光の波長に相当する光源を使用すれば良いが、単色光でない場合は、励起フィルター11を使用しても良い。このように標本は励起光によりスポット照明されるが、ガルバーミラー2a, 2bを夫々振らすことによつて、標本上でX方向、Y方向の走査を行なうことが出来る。このようにして照射された標本は蛍光を発しダイクロイックミラー3(周知のようにこのダイクロイックミラーは励起光は反射し蛍光は透過せしめるような分光特性を有している。)を通過し、ダイクロイックミラー6にて細胞質より発する蛍光の波長(630nm)の光は反射し、核より発する蛍光の波長(530nm)の

光は透過して夫々受光素子7a, 7bにて検出され、これらよりの出力は増幅器8a, 8bを通り演算処理回路9にて所定の演算が行なわれ、その結果が表示装置10により表示される。

ここで第2図に示すように細胞を励起光8にて矢印のように走査することによつて、夫々照射された部分は蛍光を発する。この場合前述のように細胞質と核とは発する蛍光の波長が異なるために夫々別の受光素子により検出され、夫々の総量を測定することが出来る。又その大きさは、第2図に示すように走査した場合、受光素子により蛍光が検出された最初の点から蛍光を発しなくなる点までの長さを求めれば良い。例えば第2図において励起光8が、細胞質Aの端A<sub>1</sub>に達した所で細胞質より蛍光が発するので受光素子7aで検出する光量は零から次第に増加し他端のA<sub>2</sub>で再び零になる。つまり第3図(4)に簡単に示すようになる。同様にして受光素子7bでは励起光8が核Bの点B<sub>1</sub>に達した時に検出され、点B<sub>2</sub>に達した時に零となり、第3図(5)に示すようになる。この図の両

端の長さL<sub>1</sub>, L<sub>2</sub>を走査する光の移動距離で測定すれば良い。尚受光素子7a, 7bの前に夫々細胞質よりの光の波長を透過するフィルター12aおよび核よりの光の波長を透過するフィルター12bを配置しても良い。一般に細胞質は良性の細胞でも悪性の細胞でも総量、大きさ共変化しないが核は悪性の細胞の方が良性の細胞に比較して総量、大きさ共に大である。したがつて細胞質、核夫々よりの蛍光量、夫々の大きさからガンであるか否かを判定することが可能である。更に細胞質の大きさCと核の大きさNとの比 $N/C$ を求めた場合、悪性細胞ではこの $N/C$ が1に近い値になるのでこれによつてもガンか否かの判定が可能である。そしてこれらの処理をすべて演算処理回路で行なせしめることによつて高速で簡単に判定することが出来る。

以上説明したように本発明蛍光測光顕微鏡によれば光源としてレーザー光源を用いているので輝度の高い小さいスポットで走査が出来又純度の高い単色光での照射が可能である。又分離した二つ

の波長の光を夫々測光することによつて同時に細胞質と細胞核の蛍光量や径を測定することが出来、高速での細胞の判定が可能である。

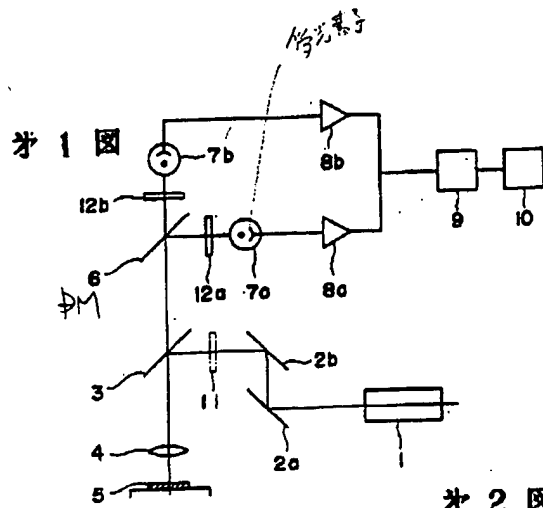
#### 4.図面の簡単な説明

第1図は本発明の顕微鏡の構成を示す図、第2図は細胞を走査する状況を示す図、第3図は第2図に示す細胞を走査した時の発光量の概略を示す図である。

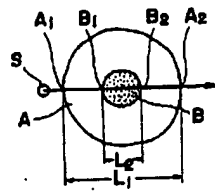
1…レーザー光源、2a, 2b…ガルバーミラー、3…ダイクロイックミラー、4…対物レンズ、5…標本、6…ダイクロイックミラー、7a, 7b…受光素子

代理人 篠原 泰 司

向 寛 二

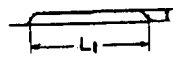


第2図



第3図

(a)



(b)



## 特許法第17条の2による補正の掲載

昭和52年特許願第 50558 号(特開昭  
53-135664号 昭和53年11月27日  
発行公開特許公報 53-1357号掲載)につ  
いては特許法第17条の2による補正があったので  
下記の通り掲載する。

Int.Cl.	識別 記号	序内整理番号
G02B 21/16		6351 24
G01J 3/42		7172 26

## 手続補正 (自発)

昭和55年4月25日

特許庁長官 殿

## 1. 事件の表示

特願昭52-50558号  
公昭 一 号

## 2. 発明の名称

レーザー光を用いた螢光顕微鏡

## 3. 補正をする者

特許出願人  
東京都渋谷区幡ヶ谷204302  
(057)パリン光学工業株式会社  
代表取締役 北村 茂 男

## 4. 代理人

T105 東京都港区新橋5019  
電話東京(432)4576  
(7586)弁理士 向 寛 二

## 5. 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄及び図面  
な説明の欄。



## 6. 補正の内容

- (1) 明細書第5頁14～15行目の「行なせしめる」を「行なわせしめる」と訂正する。
- (2) 明細書第6頁10行目の「ダイクロイックミラー」を「ダイクロイックミラー」と訂正する。